

THESIS

MUNICH

1966

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

DER EINFLUSS VON BUTYLBIGUANID IM
TIERVERSUCH AUF DIE RESORPTION
VON GLUCOSE UND FRUCTOSE

Elisabeth Hager

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

DER EINFLUSS VON BUTYLBIGUANID IM
TIERVERSUCH AUF DIE RESORPTION
VON GLUCOSE UND FRUCTOSE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Elisabeth Hager
aus München

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv. - Doz. Dr. H. MEHNERT
Korreferent:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 11.1.1966

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0170

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	7
II.	MATERIAL UND METHODIK	8
	A. Prüfung der Resorption mit Hilfe der Schlund- sondentechnik	8
	B. Prüfung der Resorption mit Hilfe der Technik der Darmperfusion	9
	C. Chemische Nachweise	9
III.	ERGEBNISSE	11
IV.	DISKUSSION	24
	1. Besprechung des vorliegenden Schrifttums	24
	2. Besprechung der eigenen Ergebnisse	25
	3. Schlußfolgerungen	27
V.	ZUSAMMENFASSUNG	29
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	30

I. EINLEITUNG

In den vergangenen Jahren wurden zahlreiche Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus blutzuckersenkender Substanzen durchgeführt, die im Gegensatz zum Insulin per os verabreicht werden können. Dabei zeigte sich, daß die Sulfonylharnstoffe (z.B. Carbutamid, Tolbutamid) ihren blutzuckersenkenden Effekt im wesentlichen über eine Stimulierung der Insulinsekretion der Bauchspeicheldrüse entfalten. Die Wirkungsweise der Biguanide dagegen ist noch ungeklärt. Zum jetzigen Zeitpunkt kann lediglich gesagt werden, daß diese Substanzen extrapankreatisch wirksam sind und möglicherweise durch eine Förderung der Glucoseoxydation in der Peripherie bei Verwendung therapeutischer Dosen den Blutzucker senken.

Als Ausgangspunkt für alle Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus solcher Substanzen müssen Experimente durchgeführt werden, die einen möglichen Einfluß solcher Stoffe auf die Resorption ausschließen oder aufzeigen. Solche Untersuchungen sind wegen des noch ungeklärten Wirkungsmechanismus besonders für die Biguanide interessant, zumal gastrointestinale Nebenerscheinungen nach Verabreichung dieser Substanzen immer wieder beobachtet wurden und auf einen möglichen Zusammenhang mit dem Wirkungsmechanismus dieser Substanzen hinweisen. Untersuchungen zur Frage der unterschiedlichen Resorption unter Biguanid-Einfluß waren auch deswegen von Wichtigkeit, weil erste Untersuchungen zu dieser Frage durchaus unterschiedliche Ergebnisse gezeigt hatten und weil überdies mit einer neuen von Mehnert und Förster (1, 2) angegebenen Methodik besonders genaue Prüfungsmöglichkeiten zur Resorption bestehen.

Mit Hilfe der sogenannten "Kollidon-Clearance", einem Verfahren, bei dem neben der Prüfsubstanz auch eine nicht resorbierbare Kontrollsubstanz verabreicht wird, sollte der Einfluß der Biguanide auf die Resorption von Glucose und Fructose ermittelt werden. Zu diesem Zweck wurden Glucose- und Fructoselösungen verschiedener Konzentration zusammen mit Biguanidlösungen verschiedener Konzentration an Ratten verabreicht, deren Resorption mit verschiedenen Versuchsanordnungen (Schlundsondentechnik und Perfusionstechnik) geprüft werden sollte. Die Ergebnisse sollten mit den Befunden von Kontrolltieren, die keine Biguanide erhielten, verglichen werden. Die Art der verwendeten Versuchsanordnungen ließ erwarten, daß eine Aussage über den Einfluß des Mechanismus der Magenentleerung und über möglicherweise veränderte Resorptionsverhältnisse möglich waren.

II. MATERIAL UND METHODIK

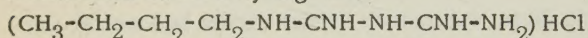
Wir verwendeten zu den Versuchen Albino-Ratten männlichen Geschlechts von 150-280 g Gewicht, die mit einer Standardkost gefüttert worden waren, die aus Brot, Salatblättern und Fischmehl bestand. (3)

24 Stunden vor Versuchsbeginn erhielten die Tiere keine Nahrung mehr und wurden in Einzelkäfige gesetzt, deren Bodengitter eine Maschenweite von 1 cm haben, um zu verhindern, daß sie ihren eigenen Kot fressen. Es wurde dadurch ein weitgehend kotfreier Dünndarm zu den Hauptversuchen erhalten.

A. Prüfung der Resorption mit Hilfe der Schlundsondentechnik. (1, 3)

Bei Versuchsbeginn bekamen die Ratten nach einem leichten Aetherrausch 1,3 ml Versuchslösung per Schlundsonde in den Magen infundiert. Die Lösungen enthielten 10 % Kollidon (Polyvinylpyrrolidon, durchschnittliches Molekulargewicht 30 000), 50 % Glucose oder 30 % Fructose, ferner 1 % bzw. 5 % Butylbiguanid · HCl (Reinsubstanz, "Chemie Grüenthal").

Strukturformel des Butylbiguanid:



15, 30, 60, 90 oder 120 Minuten nach der Sondierung wurden die Tiere durch Aether getötet, das Abdomen eröffnet, der Magen-Darm-Trakt am Übergang ins Coecum, am Pylorus und an der Cardia abgebunden, sodann vorsichtig herausgelöst, in Eiswasser gekühlt und gewaschen und schließlich in Segmente aufgeteilt. Der Darm der nach 15 oder 30 Minuten getöteten Ratten wurde in drei Abschnitte aufgeteilt und zwar wurden nach 1/10 und 3/10 des Dünndarms von cranial nach caudal doppelte Ligaturen gelegt und dann die Segmente abgetrennt. Man erhielt damit eine Unterteilung in 1/10, 2/10 und 7/10 der Länge des Darms. Bei den 60, 90 und 120-Minuten Ratten erfolgte die Teilung in vier Abschnitte (2/10, 2/10, 2/10, 4/10). Die Versuchszeit wurde vom Augenblick der Sondierung an gerechnet. 90 Sekunden vorher wurden die Ratten mit Aether betäubt. Zur Versuchszeit addieren sich noch weitere drei Minuten, bis der Darm herausgelöst war. Durch sofortiges Abkühlen in Eiswasser wurde die mögliche geringe Resorption in diesem Zeitraum praktisch verhindert. Nach der Segmentierung wurden die einzelnen Abschnitte, einschließlich Magen, aufgeschnitten und, je nach der zu erwartenden Konzentration der Versuchslösungen in 10, 20, 30 oder 40 ml eisgekühltem aqua destillata ausgewaschen. Bei einem Teil der nach 120 Minuten getöteten Ratten erfolgte auch die Untersuchung des Dickdarms.

B. Prüfung der Resorption mit Hilfe der Technik der Darmperfusion. (2)

Um zu einigen während der unter A beschriebenen Experimente auftretenden Fragen (siehe Diskussion) und zu den mit anderen Methoden in der Literatur gefundenen Ergebnissen Stellung nehmen zu können, erwies es sich als nötig, zusätzliche Versuche durchzuführen. Es wurde dabei eine ebenfalls neuartige, von Förster und Mehnert beschriebene Methodik angewandt. Die Ratten werden nach der schon oben beschriebenen Vorbehandlung, nach ebenfalls 24-stündigem Hungern und nach vorhergehender Urethannarkose laparotomiert; dann werden Sonden in das Duodenum und in den unteren Teil des Dünndarms eingeführt und fest eingebunden. Dadurch wird es möglich, unter Umgehung des Magens Zuckerlösungen direkt in den Darm einzuleiten und mittels einer Pumpe kontinuierlich zu perfundieren. Es wurden Untersuchungslösungen von 1 % Glucose und 2 % Kollidon, ferner 1 % Fructose und 2 % Kollidon in einer Menge von 60 ml verwendet. Die Lösung enthielt außerdem 1 mg, 10 mg oder 60 mg Butylbiguanid · HCl/Ratte. Die über eine Stunde perfundierten Zuckerlösungen wurden vor Einleitung in das Abdomen der Ratte während der ganzen Perfusionsdauer mit einem Thermostaten auf Körpertemperatur gehalten. Außer diesen Konzentrationen wurde die Resorption von Lösungen mit 5 % Glucose und 2 % Kollidon sowie 5 % Fructose und 2 % Kollidon, ebenfalls in einer Menge von 60 ml über eine Stunde untersucht.

C. Chemische Nachweise

Nachweis des Kollidons modifiziert nach Schubert (4)

1 ml bzw. 2 ml Darminhalt werden mit aqua destillata auf 3 ml aufgefüllt, zur Ausfällung des Eiweißes mit 10 %iger Kupfersulfatlösung versetzt und im siedenden Wasserbad 2 Minuten erhitzt. Nach Abkühlung wird das Kupfersulfat durch kräftiges Schütteln mit 1 ml 10,6 %iger Kaliumferrocyanidlösung ausgefällt. Nach dem Zentrifugieren werden 1 oder 2 ml des Überstandes mit 5 ml Jod-Jodkalilösung versetzt (0,08 mol. KJ : 0,01 mol. Jod-Sublimat). Bei Anwesenheit von Kollidon kommt es zu einer Farbvertiefung unter Bildung eines Kollidonjodkomplexes. Diese Komplexverbindung fällt mit 5 ml 10 %iger Salzsäure aus, wird zentrifugiert und der Überstand abgegossen. Der Niederschlag ist in 25 ml Methylalkohol gut lösbar. Je nach Kollidonkonzentration ergeben sich verschiedene Farbintensitäten, die am Photometer Eppendorf bei 436 m μ abgelesen werden. Diese Wellenlänge erwies sich, obwohl sie am Rande des bei 358 m μ bestehenden Maximums liegt, als die günstigste, da sie den Vorteil eines größeren Meßbereiches zeigt. Es muß sofort abgelesen werden, da die Farbintensität des Kollidonjodkomplexes bei längerem Stehen abfällt.

Die so erhaltenen Werte werden mit einer Eichkurve verglichen. Bei der Methode der Darmperfusion erfolgt der Kollidonnachweis in gleicher Weise, nur wurde mit Rücksicht auf den anderen Prozentgehalt der Untersuchungslösung eine Verdünnung von 1 : 12,5 angewandt und 3 ml zum Test eingesetzt.

Nachweis der Prüfsubstanzen

Enteiweißung:

0,5 ml bzw. 1 ml des Darmextraktes werden je nach der zu erwartenden Konzentration mit 10 ml oder 20 ml 3,6 %iger Perchlorsäure versetzt. Nach kräftigem Durchschütteln wird zentrifugiert und vom Überstand bei den hier verwendeten hohen Zuckerkonzentrationen 0,1 ml oder 0,5 ml für den Nachweis abpipettiert.

Nachweis der Glucose: (5)

Der Nachweis erfolgt nach der von Keilin und Hartree entwickelten und von Teller und Keston verbesserten Methode (Boehringer-Testverfahren). Dieser Fermentnachweis beruht auf der von der Glucoseoxydase katalysierten Oxydation der Glucose zu Glucuronsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht, das in Anwesenheit von Peroxydase o - Dianisidinhydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff oxydiert. Die Konzentration dieses Farbstoffes, der bei 436 mμ im Photometer Eppendorf gemessen wird, erlaubt eine quantitative Bestimmung der Glucose.

Zum Test werden 0,1 ml oder 0,5 ml enteiweißte Untersuchungsflüssigkeit auf 10 ml Glucosereagens verwendet.

Nachweis der Fructose: (6)

Der Nachweis erfolgte nach Roe. Vom Überstand wurden nach der Enteiweißung 1 ml mit 3 ml bzw. 5 ml 30 %iger Salzsäure angesäuert und mit 1 ml bzw. 2 ml 0,1 %iger alkoholischer Resorcinlösung versetzt. Nach achtminütigem Erhitzen im Wasserbad von 80 Grad wird abgekühlt und sofort bei 546 mμ kolorimetriert.

Bei der Methode der Darmperfusion mußten die Nachweise für Glucose und Fructose hinsichtlich der erforderlichen Verdünnung abgeändert werden, um im Meßbereich des Photometers zu bleiben.

III. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse sind aus den folgenden 9 Tabellen und 3 Abbildungen zu ersehen.

Folgende Abkürzungen gelten für die nachstehenden Tabellen:

$\bar{x}$ = Mittelwert

s = Standardabweichung

$s_{\bar{x}}$ = Streuung

$2s_{\bar{x}}$ = Signifikanz

n = Anzahl der bei den einzelnen Versuchsreihen verwendeten Ratten

⁺
Als Kontrollwerte wurden die von Mehnert, Förster und Mitarbeitern unter den gleichen Versuchsbedingungen gewonnenen Ergebnisse verwandt.

TABELLE I

Übersichtstabelle über die Zahl der bei den Resorptionsprüfungen verwendeten Ratten (Erklärung siehe Material und Methodik)

Gesamtzahl der Versuchstiere: 333

Resorptionsprüfung mit der Schlundsondentechnik

	15 Min.	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
Glucose 50 %					
Butylbiguanid • HCl: 13 mg	8	9	10		7
Glucose 50 %					
Butylbiguanid • HCl: 65 mg	7	13	13	6	6
Kontrolltiere					
Glucose 50 %	6	12	12		6
Fructose 30 %					
Butylbiguanid • 1: 13 mg	10	10	10		
Kontrolltiere					
Fructose 30 %	6	11	12		

Resorptionsprüfung mit der Technik der Darmperfusion

Butylbiguanid • HCl

	1 mg	10 mg	60 mg	Kontrolle
Glucose 1 %	9	15	17	20
Fructose 1 %		9	15	10
Glucose 5 %		12	11	13
Fructose 5 %			11	17

TABELLE IIa

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Glucoseresorption aus dem Dünndarm der Ratte (Schlundsondenmethode)

Glucose Konz.	Butyl- biguanid- Menge in mg pro Ratte	Res. dauer: 15 Min.			Res. dauer: 30 Min.			Res. dauer: 60 Min.		
		$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	13 mg	74,5 mg	24,45	9,28	98,0 mg	34,10	12,07	198,5 mg	51,4	17,15
		25,5 mg (34,2 %)	12,90	4,88 n=8	61,0 mg (62,2 %)	30,85	10,93 n=9	171,5 mg (86,5 %)	54,4	18,15 n=10
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	65 mg	43,0 mg	13,95	5,70	86,5 mg	29,25	8,44	98,0 mg	62,35	17,98
		27,0 mg (62,8 %)	14,30	5,84 n=7	65,0 mg (75,1 %)	25,25	7,30 n=13	80,0 mg (81,6 %)	61,50	17,76 n=13
+ 50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	Kontroll	142,8 mg	41,95	18,76	186,7 mg	35,15	10,60	306,8 mg	52,60	15,89
		75,1 mg (52,7 %)	10,55	4,72 n=6	138,2 mg (74,0 %)	18,15	5,46 n=12	270,0 mg (88,0 %)	48,60	14,68 n=12

TABELLE IIb

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Glucoseresorption aus dem Dünndarm der Ratte (Schlundsondenmethode)

Glucose Konz.	Butyl- biguanid- Menge in mg pro Ratte		Res. dauer: 90 Min.			Res. dauer: 120 Min.		
			$\bar{x}$	s	$\frac{s}{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$\frac{s}{\bar{x}}$
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	13 mg	Darm- angebot dav. res.				272,0 mg	60,5	24,70
						246,0 mg (90,4 %)	67,5	27,55 n=7
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	65 mg	Darm- angebot dav. res.	82,0 mg	52,20	23,325	67,5 mg	54,15	24,24
			45,0 mg (54,9 %)	32,75	12,640 n=6	40,5 mg (60,0 %)	34,05	15,25 n=6
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	Kontrolle	Darm- angebot dav. res.				406,0 mg	129,45	57,95
						399,0 mg (98,2 %)	128,95	57,60 n=6

TABELLE IIIa

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Glucoseresorption in den einzelnen Dünndarmabschnitten der Ratte (Schlindsondenmethode)

Glucose Konz.	Butyl- biguanid- Menge in mg pro Ratte	Angebot dav. res. in %	Res. dauer: 15 Min.				Res. dauer: 30 Min.				Res. dauer: 60 Min.			
			321,0	14,5	17,5	42,5	334,0	17,0	16,5	55,5	247,5	18,0	12,0	12,5
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	13 mg	0	0	0	2,0	24,5	29,5	0	3,0	49,5	19,0	2,0	5,5	11,0
		0	0	0	11,3	57,6	8,8	0	18,2	86,1	7,6	11,1	45,8	88,0
														98,1
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	65 mg	504,0	9,5	2,5	30,5	361,5	14,0	8,0	64,5	400,5	17,5	3,5	11,5	65,0
		88,0	1,5	1,5	23,0	79,5	2,0	2,5	60,5	94,5	5,0	2,0	10,5	61,5
		34,9	15,8	60,0	75,4	21,9	14,3	31,2	93,7	23,6	28,6	57,1	91,3	94,6
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	Kontrolle	477,2	44,4	28,7	69,5	424,2	30,8	26,3	130,0	320,5	28,2	23,4	45,2	209,8
		7,9	4,7	10,1	60,3	11,9	3,9	15,0	119,3	12,5	7,6	14,1	41,9	207,2
		1,7	10,6	35,2	86,7	2,8	12,2	57,0	91,8	3,9	27,0	60,2	92,8	98,9

TABELLE IIIb

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Glucoseresorption in den einzelnen Dünndarmabschnitten der Ratte (Schlundsondenmethode)

Glucose Konz.	Butyl- biguanid- Menge in mg pro Ratte		Res. dauer: 90 Min.					Res. dauer: 120 Min.					
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	13 mg	Angebot dav. res. in %						150,5 0 0	7,5 3,0 40,0	9,5 5,5 57,9	18,0 15,5 86,1	145,0 137,5 94,8	107,5 99,5 92,5
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	65 mg	Angebot dav. res. in %	342,5 6,0 1,5	26,0 4,5 17,3	7,5 0,5 6,7	11,5 7,5 65,2	45,5 41,5 91,2	369,0 39,0 10,5	16,0 0 0	12,0 6,0 50,0	14,0 13,0 92,8	25,0 23,5 94,0	
50 %ige Lösung (650 mg in 1,3 ml)	Kontrolle	Angebot dav. res. in %						9,5 0 0	5,0 3,0 60,0	5,5 3,0 54,5	15,0 14,0 93,3	380,0 379,0 99,7	

TABELLE IV

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Fructoseresorption aus dem Dünndarm der Ratte (Schlundsondenmethode)

Fructose Konz.	Butyl- biguanid- Menge in mg pro Ratte	Res. dauer: 15 Min.			Res. dauer: 30 Min.			Res. dauer: 60 Min.		
		$\bar{x}$	$-s$	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	s	$s_{\bar{x}}$
30 %ige Lösung (390 mg in 1,3 ml)	13 mg	44,4 mg	27,36	9,12	54,0 mg	28,62	9,54	73,8 mg	27,03	9,00
		8,4 mg (18,1 %)	6,63	2,21 n=10	29,1 mg (53,9 %)	17,28	5,79 n=10	59,4 mg (80,5 %)	28,52	8,85 n=10
30 %ige Lösung (390 mg in 1,3 ml)	Kontrolle	89,9 mg	27,45	12,24	125,9 mg	32,91	10,41	202,9 mg	57,84	17,43
		32,7 mg (36,4 %)	3,63	1,62 n=6	65,5 mg (52,1 %)	20,73	6,57 n=11	124,9 mg (61,4 %)	30,09	9,06 n=12

TABELLE VI

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Resorption von Glucoselösungen aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte
(Menge der Perfusionslösung: 60 ml; Versuchsdauer: 60 Min.)

Perfundiertes Butylbiguanid in mg pro Ratte	Konz. der Lösungen	n	Durchschnittliches Gewicht der Ratten	mg-Glucose in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	$2s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	$2s_{\bar{x}}$ (%)	Wiedererhaltene Flüssigkeitsmenge in % des Ausgangswertes
1 mg	1 %	9	200,5	600	198,1	10,67	24,228	33,0	1,780	4,038	63,3
10 mg	1 %	15	193,6	600	206,3	13,54	28,890	34,4	2,260	4,815	66,7
60 mg	1 %	17	195,0	600	199,4	14,01	29,616	33,2	2,338	4,936	67,3
Kontrolle	1 %	20	200,2	600	217,7	9,75	20,376	36,3	1,625	3,396	62,1
10 mg	5 %	12	180,0	3000	455,4	32,81	71,430	15,5	1,092	2,381	93,3
60 mg	5 %	11	200,0	3000	419,5	36,16	79,860	14,0	1,204	2,662	100,0
Kontrolle	5 %	13	204,0	3000	392,1	32,43	70,110	13,1	1,081	2,337	88,0

TABELLE VII

Der Einfluß von Butylbiguanid auf die Resorption von Fructoselösungen aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte
(Menge der Perfusionslösung: 60 ml; Versuchsdauer: 60 Min.)

Perfundiertes Butylbiguanid in mg pro Ratte	Konz. der Lösungen	Durchschnittliches Gewicht der Ratten	mg=Fructose in der Perfusionslösung	Resorption in mg	$s_{\bar{x}}$ (mg)	$2s_{\bar{x}}$ (mg)	Resorption in %	$s_{\bar{x}}$ (%)	$2s_{\bar{x}}$ (%)	Wiedererhaltene Flüssigkeitsmenge in % des Ausgangswertes
10 mg	1 %	9	600	47,3	8,74	19,806	7,9	1,457	3,301	74,3
60 mg	1 %	15	600	62,8	10,18	21,684	10,5	1,694	3,614	75,7
Kontrolle	1 %	10	600	91,7	11,29	24,948	15,3	1,970	4,158	68,5
60 mg	5 %	11	3000	214,2	25,39	55,980	7,1	0,845	1,866	99,3
Kontrolle	5 %	17	3000	211,5	25,995	54,870	7,1	0,866	1,829	99,0

Der Einfluss von Butylbiguanid auf die Resorption 50%iger Glucoselösungen oder 30%iger Fructoselösungen aus dem Dünndarm der Ratte (Schlundsondenmethode)

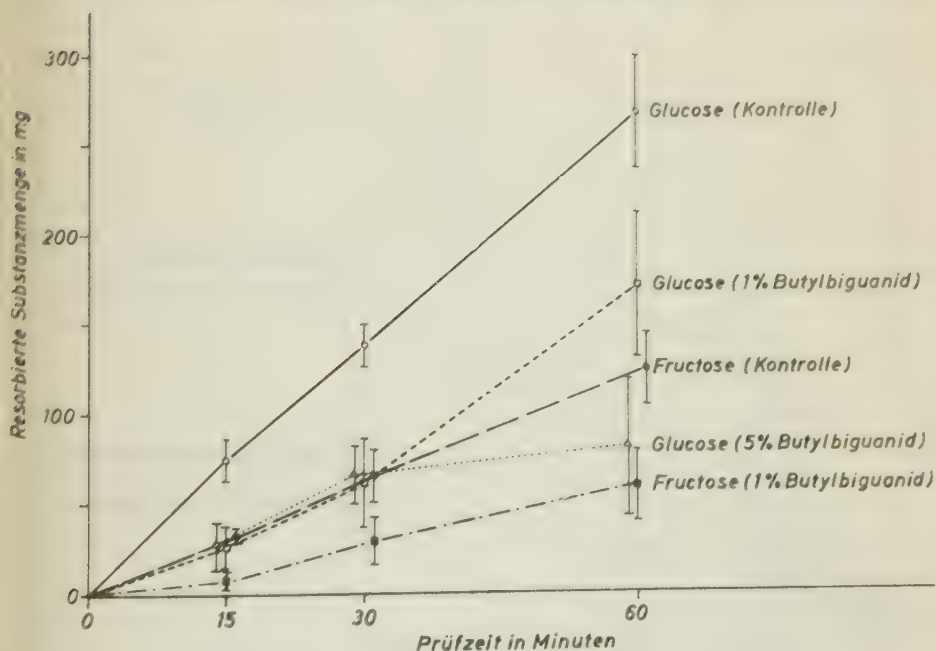


ABBILDUNG I

Der Einfluss von Butylbiguanid auf die Magenentleerung bei Verabreichung 50%iger Glucoselösungen oder 30%iger Fructoselösungen an Ratten (Schlundsondenmethode)

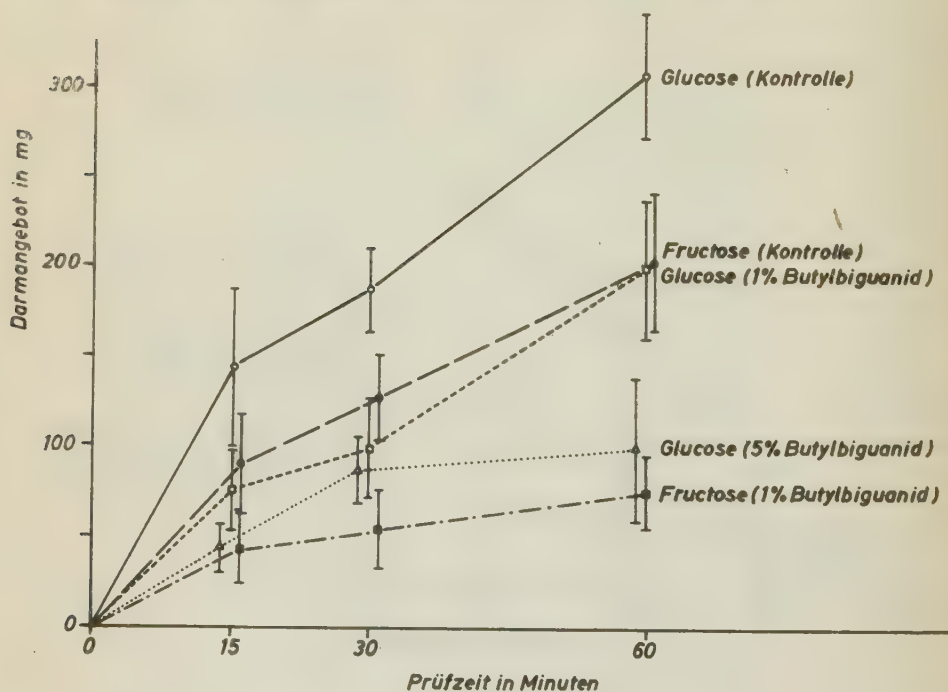
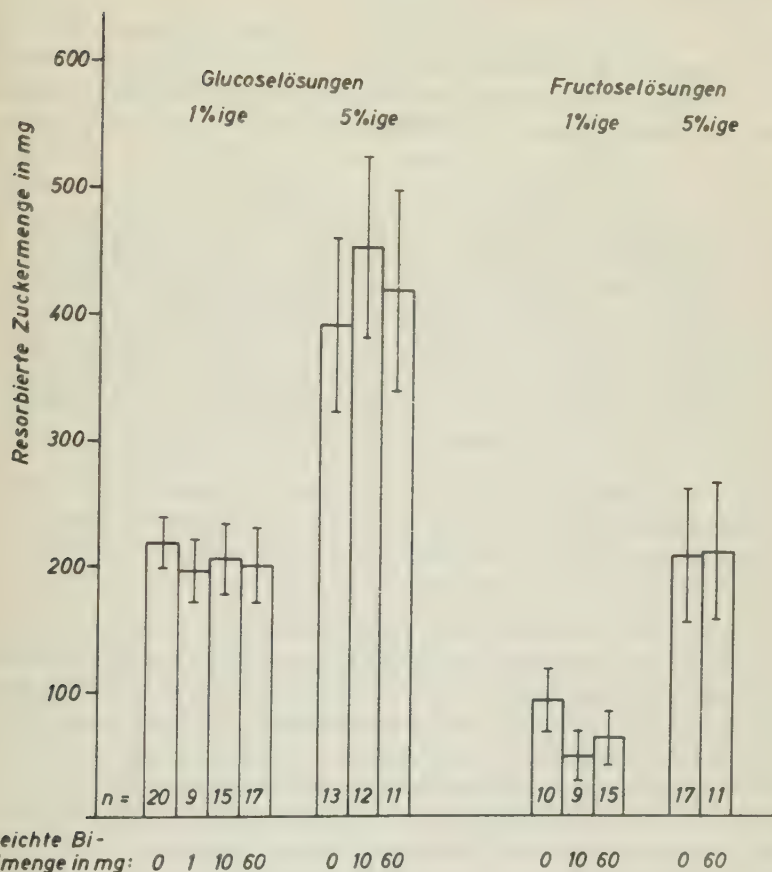


ABBILDUNG II

Der Einfluss von Butylbiguanid auf die Resorption von Glucose- und Fructoselösungen aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte



ABBILDUNG

IV. DISKUSSION

1. Besprechung des vorliegenden Schrifttums.

Bereits kurz nach Einführung der oralen Antidiabetica in die Diabetesbehandlung wurde von Friedlich et al. (7) die Wirkung des Sulfonylharnstoffs Carbutamid auf die Magenentleerung beschrieben. Die Autoren verwandten die Cori-Methode. Sie verabreichten den Versuchstieren (Albinoratten) 2 ccm einer 50 % Glucoselösung (= 1000 mg) mittels Schlundsonde, nachdem sie 6 Stunden vor der Sondierung 2 ccm einer 5 % Carbutamid-Lösung (= 100 mg) in die Schwanzvene der Tiere injiziert hatten. Die Tiere wurden nach 1, 2, 3, 4 und 5 Stunden getötet und der Darminhalt auf reduzierende Substanzen untersucht. Die Ergebnisse wurden mit Kontrolltieren verglichen, die statt Carbutamid 2 ccm NaCl-Lösung bekamen. Die Autoren stellten nach 2 Stunden bereits signifikante Unterschiede an Glucose im Magen-Darm-Trakt fest. Sie fanden, daß besonders der Magen vermehrt Glucose enthielt und bezogen die scheinbar verminderte Resorption auf eine Hemmung der Magenentleerung und der Darmperistaltik, wie sie bereits früher für die ähnlich konfigurierten Sulfonamide beschrieben worden war. (8)

Von Klimas und Searle (9) wurden bei Perfusion des Rattendünndarms mit einer 1 % Glucoselösung, die noch 0,1 % Tolbutamid enthielt, keine Unterschiede der Resorption gegenüber Normaltieren gefunden. Die Autoren machten keine Angaben über die Menge der verabreichten Glucoselösung.

Biró et al. (10) berichteten 1961 über den Einfluß des Phenyläthylbiguanids (= PEB) auf die Darmresorption. Sie fanden eine signifikante Hemmung der Resorption bei Verwendung einer von der Verzář'schen Methodik (11) abgeleiteten Versuchsanordnung bei Ratten. Die Autoren banden jeweils eine Kanüle ins Duodenum und ins freie Jejunum am Übergang ins Colon ein und führten zu Beginn der Prüfperiode eine einmalige Injektion der Prüfsubstanzlösung ein. Die Versuchstiere wogen nur $110 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$. Verabreicht wurden 5 ml einer 5,4 % (isoosmotischen) Glucoselösung. Die Versuchsdauer betrug 30 Min. Die Autoren stellten für Kontrolltiere $141 \pm 10 \text{ mg}$ Glucoseresorption/Stunde fest, während nach zusätzlicher Verabreichung von 120 mg/kg PEB in der Glucoselösung eine Verminderung der Zuckerresorption auf $105 \pm 16 \text{ mg}$ und damit eine signifikante Hemmung der Glucoseresorption bestand. Eine Aussage über das Ausmaß der Magenentleerung konnte bei alleiniger Verwendung der von diesen Autoren verwandten Methode nicht gemacht werden. (12)

2. Besprechung der eigenen Ergebnisse

Die Untersuchungen wurden sowohl mit Hilfe der Schlundsondentechnik als auch mit einer Perfusionsmethode am Dünndarm der Ratte durchgeführt. Um bessere Aussagen über das quantitative Ausmaß der Resorption machen zu können, wurde die Kollidon-Clearance-Methode verwendet. Bei der Schlundsondentechnik kann auf Grund des im Dünndarm wieder gefundenen Kollidons eine genaue Aussage über das Ausmaß der Magenentleerung und der Peristaltik gemacht werden. Es wurden dabei Fehler vermieden, die z.B. durch das gelegentlich beobachtete Erbrechen der Ratten hervorgerufen worden wären. Die erbrochenen Substanzmengen wären nämlich als Resorption in die Bilanz eingegangen.

Wir verwendeten 1,3 ml einer 50 % Versuchslösung von Glucose, um eine möglichst physiologische Füllung des Rattenmagens zu erzielen. Mit Hilfe dieser Methodik konnten wir bereits nach 15 Min. eine signifikante Hemmung der Magenentleerung nachweisen. Die Magenentleerung bei Ratten, deren Versuchslösung noch zusätzlich 5 % Biguanid (= 65 mg Biguanid/Ratte) enthielt, betrug etwa 30 %, während sie bei Tieren, deren Versuchslösung nur 1 % Biguanid (= 13 mg Biguanid/Ratte) enthielt, etwa 52 % der Kontrolltiere betrug. Nach 30 Min. war die Magenentleerung bei Gaben von 5 % Biguanid ca. 46 % und bei Gaben von 1 % Biguanid ca. 52 %. Auch nach 1 und 2 Stunden betrug die Magenentleerung nur einen Bruchteil der Magenentleerung von Kontrolltieren, nämlich bei 1 Std.-Ratten bei 5 % Biguanid-Zusatz etwa 32 % und bei 1 % Biguanid-Zusatz etwa 65 %. Bei 2 Std.-Ratten bei 5 % Biguanid-Zusatz betrug die Magenentleerung etwa 17 % und bei 1 % Biguanid-Zusatz etwa 67 %. Bei den Kontrolltieren wurde nach 2 Std. praktisch keine Glucose mehr im Magen gefunden, während bei Tieren, deren Versuchslösung 1 % Biguanid enthielt, von der verabreichten Menge noch etwa 23 % und bei Tieren, deren Versuchslösung 5 % Biguanid enthielt, ca. 57 % enthalten waren. Um festzustellen, ob es sich um eine Magenentleerungsstörung oder um eine Störung der Peristaltik handelt, wurde bei einem Teil der Tiere auch der Dickdarm aufgearbeitet und auf Kollidon untersucht. Es zeigte sich dabei, daß nach 2 Stunden größere Mengen Kollidon im Dickdarm nachzuweisen waren. Auch bei den anderen Tieren, bei denen der Dickdarm nicht untersucht worden war, wurde das Kollidon vorzugsweise in den unteren Dünndarmabschnitten aufgefunden. Nach diesen Befunden scheint es sich bei der Hemmung der Magenentleerung mehr um eine Wirkung der Biguanide auf die physiologische Funktion des Magens als auf die Peristaltik zu handeln. Besonders bei den Kontrolltieren fällt auf, daß die wiedergewonnene Kollidonmenge nicht der verabreichten entspricht. Während 130 mg Kollidon per Schlundsonde instilliert wurden, betrug die wiedererhaltene Kollidonmenge nur etwa 80 mg Kollidon.

Diese Unterschiede sind damit zu erklären, daß bei diesen Tieren der Dickdarm nicht auf Kollidon untersucht worden war und das in den Dickdarm gelangte Kollidon nicht erfaßt werden konnte. Bei den Tieren, bei denen auch der Dickdarm untersucht worden war, nämlich bei 2 Std.-Ratten, denen zusätzlich 1 % Biguanid verabreicht wurde, ließen sich auch im Dickdarm größere Mengen von Kollidon feststellen. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß einige Tiere, denen gleichzeitig Biguanid verabreicht wurde, einen Teil der instillierten Flüssigkeit erbrachen. Jedoch ist mit der Schlundsondenmethode keine endgültige Aussage darüber zu machen. Nach der prozentualen Resorption zu urteilen, kann man bei Verwendung der Schlundsondenmethode den Einfluß auf die Resorption nicht eindeutig feststellen. Da die in den Darm gelangten Glucosemengen teilweise sehr gering sind, ist eine Verminderung der prozentualen Resorption, wie sie z. B. nach 2 Stunden zu bestehen scheint, auf die sehr geringen Glucose- und Kollidonmengen zurückzuführen, die in den einzelnen Darmabschnitten gefunden wurden und die bereits in der Nähe des Leerwertes liegen. Die nach kurzer Zeit auftretende starke Hemmung der Magenentleerung ist im Verhältnis zu den Angaben von Friedlich et al. die allerdings eine andere blutzuckersenkende Substanz, nämlich Tolbutamid verwendet hatten, umso erstaunlicher, als die Tiere in der kurzen Zeit nur einen Bruchteil des oral mitverabreichten Biguanids resorbiert haben konnten.

Friedlich et al. hatten, wie oben bereits ausgeführt, die Substanz intravenös verabreicht und damit eine maximale Wirkung erzielt, während bei unserer Versuchsanordnung durch die orale Verabreichung des Biguanids noch weitere Faktoren, wie Resorption des Biguanids und auch die Beeinflussung der Magenentleerung, einen hemmenden Einfluß auf die Wirkung der verabreichten Biguanidmenge haben mußten. Es ist anzunehmen, daß die Biguanid-Resorption ebenfalls in erster Linie im Dünndarm und wesentlich langsamer als z. B. die Resorption von Glucose erfolgt. Durch die stark verminderte Magenentleerung ist demnach das Biguanidangebot an den Darm sehr gering. Es beträgt z. B. in der ersten Stunde nur insgesamt etwa 10 - 12 mg bei Verwendung 5 % Biguanid-Lösungen.

Für die Fructose war eine im gleichen Maß wie für die Glucose verminderte Magenentleerung festzustellen. Für diese Substanz hatten wir keine Vergleichsuntersuchungen in der Literatur finden können.

Da bereits von Mehnert und Förster (1, 3) festgestellt worden war, daß der osmotische Druck der instillierten Lösungen einen hemmenden Einfluß auf die Magenentleerung ausübt, könnte der Einwand gemacht werden, daß durch die zusätzliche Biguanidverabreichung der osmotische Druck der Lösungen erhöht wird. Das Molekulargewicht von Butylbiguanid liegt in der gleichen Größen-

ordnung wie das von Glucose. Bei Berücksichtigung der höchsten verwendeten Biguanidkonzentration wäre zu der bereits 3 molaren Glucoselösung (= 50 % Glucose) noch eine 1/3 molare Biguanidlösung (= 5 % Biguanid) zu addieren. Es ist bereits überschlagsmäßig zu erkennen, daß die zusätzliche Biguanidverabreichung keinen großen Einfluß auf die Osmolarität ausgeübt hat. Aus Tabelle IIa ist zu ersehen, daß die Magenentleerung bei den Tieren, die zusätzlich zur Glucose noch 5 % Biguanid verabreicht bekamen, nach 60 Min. nur noch 1/3 der Kontrollwerte beträgt, während, wie aus Abb. III zu ersehen ist, eine Veränderung der Glucosekonzentration keinen so entscheidenden Einfluß auf die Magenentleerung ausübt. Bei Verwendung einer 50 %igen Glucoselösung beträgt die Magenentleerung nämlich nach 60 Min. noch etwa 65 % der Werte, die bei Verwendung 20 %iger Lösungen erreicht werden.

Sowohl Klimas und Searle (9) als auch Biró et al. (10) hatten ihre Untersuchungen mit 1 %igen Glucoselösungen durchgeführt. Die durchschnittliche Resorption der Normaltiere bei Klimas und Searle war mit 150 mg/45 Min. bei Kontrolltieren etwa so hoch wie bei unseren Kontrolltieren mit 200 mg/Std. Bei 0,1 % Tolbutamid hatten diese Autoren ebenso wie wir bei Verwendung von 1 mg, 10 mg oder 60 mg Biguanid keine Veränderung der Glucose-Resorption gefunden. Im Gegensatz dazu hatten Biró et al. eine Hemmung der Glucose-Resorption um ca. 30 % des Ausgangswertes erzielt durch gleichzeitige Gabe von 12 mg Phenyläthylbiguanid/100 g Ratte. Möglicherweise ist diese von Biró et al. (10) beschriebene Hemmung darauf zurückzuführen, daß die Autoren wesentlich leichtere Tiere als wir verwendet haben.

Andererseits liegt der Vorteil der von uns durchgeführten Perfusionstechnik darin, daß die Resorption des gesamten Dünndarms, während der geprüften Zeiteinheit erfaßt wird. Wir konnten feststellen, daß bei Verwendung 5 % Glucoselösungen erst nach Infusion von mehr als 10 ml dieser Lösung in den Dünndarm der Ratte der gesamte Dünndarm mit Flüssigkeit gefüllt war und diese an der unteren Sonde wieder austrat. Als besonders günstig erweist sich unsere Perfusionstechnik dadurch, daß während der gesamten Prüfzeit die Konzentration der Glucoselösung etwa konstant gehalten werden konnte.

Für die Resorption von Fructose konnten ebenfalls wie für die Resorption von Glucose von uns keine signifikanten Resorptionsänderungen unter Biguanideinfluß bei Perfusion des Rattendarms festgestellt werden.

3. Schlußfolgerungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß Biguanide selbst in den von uns verwendeten sehr hohen Konzentrationen die Zuckerresorption nicht beeinflussen. Lediglich indirekt ist ein Effekt insofern nachzuweisen, als Butylbiguanid die

Magenentleerung signifikant verzögert; dieser Effekt ist konzentrationsabhängig. Für den Kliniker erhebt sich die Frage, ob dieser Befund der verzögerten Magenentleerung in Zusammenhang steht mit jenen gastrointestinalen Nebenerscheinungen, die bei Verabreichung hoher Biguaniddosen in der Klinik immer wieder zur Beobachtung kommen. Ein solcher Zusammenhang wäre denkbar, da von manchen Autoren (13, 14) lokale Reizsymptome im Sinne einer Gastritis nach Biguanidapplikationen beobachtet wurden und die von uns beobachtete verzögerte Magenentleerung dann als Störung des Entleerungsmechanismus eines irritierten Magens zu deuten wäre. Ob die beim Menschen angewendeten wesentlich geringeren Biguaniddosen eine Verzögerung der Magenentleerung bewirken, bleibe dahingestellt. Immerhin ist daran zu denken, daß neben dem unbezweifelbaren Stoffwechseleffekt der Biguanide bei Überdosierung der Substanzen auch eine verzögerte Magenentleerung für die Besserung der Stoffwechsellage mitverantwortlich sein könnte; denn wir wissen ja, daß Diabetiker kleine Nahrungsmengen, die dem Darm langsam angeboten werden, besser verwerten als ein größeres Angebot von Nährstoffen. Stets bleibt natürlich zu bedenken, ob nicht eine Verbesserung der Stoffwechsellage auch mit der infolge gastrointestinalen Nebenwirkungen auftretenden Appetitlosigkeit bei Überdosierung der Biguanide zusammenhängt. Solche Erwägungen entfielen natürlich bei der von uns gewählten Versuchsanordnung, da die Ratten gleiche Zuckermengen per Schlundsonde unabhängig von der Biguanidzufuhr verabreicht bekamen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe einer neuartigen Methodik wurde untersucht, ob die blutzuckersenkenden Substanzen vom Typ der Biguanide einen Einfluß auf die Resorption von Glucose und Fructose ausüben. Zu diesem Zweck wurde die Resorption von Glucose und Fructose in verschiedenen Konzentrationen und nach verschiedenen Prüfzeiten an insgesamt 333 Ratten untersucht. Bei den nach Applikation mit der Schlundsonde durchgeführten Experimenten wurde eine scheinbar verzögerte Resorption dieser Monosaccharide festgestellt, die sich jedoch bei zusätzlichen Untersuchungen mit einer direkten Perfusion des Dünndarms nicht bestätigen ließ. Vielmehr ist aus diesen Untersuchungen zu erkennen, daß die gleichzeitige Verabreichung von Butylbiguanid zu den Zuckerlösungen die Magenentleerung der Versuchstiere signifikant im Sinne einer Verzögerung beeinflußt. Dieser Effekt ist nicht durch eine osmotische Wirkung der in dieser Hinsicht nur gering zu veranschlagenden Biguanidwirkung anzusehen. Es wird diskutiert, ob die in der Klinik beobachteten lokalen Reizsymptome im Sinne einer Gastritis nach der Biguanidapplikation für die hier beobachtete verzögerte Magenentleerung verantwortlich zu machen sind. Vom Standpunkt der Klinik her wäre an sich eine verzögerte Magenentleerung und damit ein langsames Angebot der zur Resorption gelangenden Nährstoffe für die diätetische Behandlung des Diabetes erwünscht.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Mehnert, H. und H. Förster:
Die Prüfung der Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit
mit einer neuen Methodik.
Klin. Wschr. 39, 596 (1960)
2. Förster, H. und H. Mehnert:
Resorptions- und Sekretionsprüfungen bei Perfusion des Ratten-
darms mit hypo- und hypertonen Glucoselösungen.
Klin. Wschr. 41, 1167 (1963)
3. Förster, H.:
Med. Inauguraldissertation
München 1962
4. Schubert, R. und H. Wagner:
Normalausscheidung von Periston N bei Anwendung eines
neuen Kollidonnachweises.
Z. ges. exp. Med. 131, 90 (1959)
5. Keilin, D. and E.F. Hartee:
Properties of catalase. Catalysis of coupled oxidation of
alcohols.
Biochem. J. 39, 293 (1945)
6. Roe, J. H.:
A colorimetric method for the determination of fructose in
blood and urine.
J. biol. Chem. 107, 15 (1934)
7. Friedlich, T. L., M. Ashworth, R. D. Hawkins and R. E. Haist:
An effect of BZ 55 (carbutamide) on the rate of absorption of
glucose from the gastrointestinal tract.
Canad. Med. Association Journ. 74, 973 (1956)
8. Kleibel, F.:
Chemical structure of sulphonamides and their effect on
peristalsis.
Lancet S. 882 (1954)

9. Klimas, J. E. and G. W. Searle:
Effects of tolbutamide on intestinal glucose absorption and
blood glucose levels.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 98, 901 (1958)
10. Biró, L., T. Banfász, M. B. Kovacs und M. Bajor:
Die Wirkung des Phenylaethylbiguanids auf die Glucose-
resorption.
Klin. Wschr. 39, 760 (1961)
11. Verzá, F.:
Die Rolle von Diffusion und Schleimhautaktivität bei der Re-
sorption von verschiedenen Zuckern aus dem Darm.
Biochem. Z. 276, 17 (1935)
12. Förster, H. und H. Mehnert:
Tierexperimentelle Untersuchungen zur aktiven Resorption.
I. Mitteilung. Zur Frage einer Substratsättigungskurve für die
Resorption von Glucose und Galaktose.
Klin. Wschr. im Druck.
13. Schrick, K. Th.:
Erfahrungen mit Biguaniden unter Berücksichtigung der Magen-
verträglichkeit.
Internat. Biguanid-Symposium 12./13.5.1960, Aachen,
Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1960. S. 56.
14. Mehnert, H.:
Mitteilung einer Diskussionsbemerkung (Tolbutamid-Konferenz,
Kalamazoo, Mich., USA, Febr. 1962).

Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Mehnert danke ich
für die Überlassung des Themas, für seine Unterstützung und für sein stetiges Interesse an dem Fortgang der Untersuchungen.

Außerdem bin ich Herrn Prof. Dr. W. Seitz zu Dank verpflichtet, daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

LEBENS LAUF

Ich, Elisabeth Hager, wurde am 12.8.1940 als Tochter des damaligen wissenschaftlichen Assistenten an der Technischen Hochschule München Anton Hager und seiner Ehefrau Katharina, geb. Jobst in München geboren. Nach 4 Klassen Volksschule und 9 Klassen hum. Gymnasium begann ich im WS 1959/60 das Studium der Medizin an der Universität München. Im Frühjahr 1961 bestand ich in München das Vorphysikum, nach dem SS 1962 das Physikum. Am 21.12.1965 schloß ich das Studium mit dem Staatsexamen.ab.

